

Received: 2006.02.02
Accepted: 2006.04.07
Published: 2006.05.08

Znaczenie podocytów w prawidłowym funkcjonowaniu kłębuszka nerkowego oraz w patogenezie kłębuszkowych zapaleń nerek. Część I. Charakterystyka fenotypowa i czynność podocytów w okresie ich różnicowania się i dojrzałości

The role of podocytes in normal glomerular function and in the pathogenesis of glomerulonephritis. Part I. Phenotypic and functional characteristics of podocytes during their differentiation and maturity

Anna Kubiak, Zofia I. Niemir

Pracownia Nefrologii Molekularnej, Katedra i Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Podocyty odgrywają główną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu kłębuszka nerkowego. Oprócz komórek śródbłonna pętli włosniczkowej i kłębuszkowej błony podstawnej wchodzi w skład bariery filtracyjnej. Współdziałając z komórkami mezangialnymi stabilizują strukturę kłębuszka. Pod względem strukturalnym podocyty można podzielić na trzy strukturalne i funkcjonalne segmenty: ciało komórki, wyrostek większy i wyrostek stopowaty, który odgrywa kluczową rolę w patogenezie białkomoczu. Podocyty są komórkami końcowo zróżnicowanymi z charakterystycznymi cechami fenotypowymi odpowiadającymi ich funkcji, a możliwości ich kompensacji są ograniczone do przerostu. W warunkach prawidłowych dojrzały podocyt nie może ponownie przejść cyklu komórkowego. Ostatnio wiele uwagi poświęca się znaczeniu błon szczelinowych w patogenezie białkomoczu. Strukturalne nieprawidłowości każdego z białek kompleksu błon szczelinowych lub zaburzenie wzajemnych oddziaływań między nimi mogą powodować upośledzenie funkcjonowania bariery filtracyjnej.

Słowa kluczowe:

fazy dojrzewania podocytów • markery dojrzałości i różnicowania • cykl komórkowy podocyta • funkcja bariery filtracyjnej kłębuszka nerkowego

Summary

Podocytes play an important role in glomerular function. Together with endothelial cells of the glomerular capillary loop and the glomerular basement membrane they form a filtration barrier. Podocytes cooperate with mesangial cells to support the structure and function of the glomerulus. With regard to its structure, the podocyte can be divided into three structural and functional segments: cell body, major processes, and foot processes, the latter playing a crucial role in the pathogenesis of proteinuria. Podocytes are end-differentiated cells with specific phenotypic fea-

tures associated with their function. The compensatory ability of these cells is limited to hypertrophy. Under normal conditions a podocyte cannot restart the cell cycle. Attention has recently been drawn to the importance of slit diaphragms in the pathogenesis of proteinuria. Structural damage to each of the slit diaphragm proteins as well as disturbances in their mutual interactions can result in insufficiency of the filtration barrier.

Key words: stages of podocyte formation • markers of maturity and differentiation • podocyte cell cycle • function of the glomerular filtration barrier

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_60/9122.pdf

Word count: 5800

Tables: –

Figures: 1

References: 81

Adres autorki: dr hab. n. med. Zofia I. Niemir, Pracownia Nefrologii Molekularnej, Katedra i Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej ul. S. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań;
e-mail: zniemir@usoms.poznan.pl

WPROWADZENIE

Uszkodzenie podocytów występuje w wielu chorobach kłębuszkowych przebiegających z białkomoczem i prowadzących do przewlekłej niewydolności nerek. Poznanie czynników regulujących fizjologiczne właściwości podocytów i mechanizmów ich odpowiedzi na uszkodzenie może doprowadzić do odkrycia istoty patogenezы białkomoczu i chorób kłębuszkowych. W przeszłości trudno było badać funkcje podocytów ze względu na ich umiejscowienie oraz trudności w scharakteryzowaniu tych komórek w hodowli komórkowej. Jednakże poczynione w ostatnich latach postępy w biologii molekularnej i technikach prowadzenia hodowli komórkowej w sposób istotny zwiększyły wiedzę o roli podocytów w funkcjonowaniu kłębuszka nerkowego [56].

KSZTAŁTOWANIE SIĘ PODOCYTA

Rozwój kłębuszka nerkowego można podzielić na cztery fazy: pęcherzykową, S-kształtną, pętli naczyniowej oraz dojrzałości [1]. Podocyty powstają z komórek prekursorowych, którymi są pobudzone mezenchymalne nerkowe komórki pnia tworzące początkowo skupiska. Komórki mezenchymalne wykazują obecność białek Pax2 i Bcl-2 (Bcl-2, B cell lymphoma antigen-2), ich ekspresja spada w stadium pętli naczyniowej i jest niezauważalna w dojrzałym kłębuszku [48,49]. Białkiem pojawiającym się już w bardzo wczesnym stadium rozwoju podocytów jest białko guza Wilmsa (WT1, Wilms' tumour). Jest ono białkiem hamującym rozwój nowotworów [80]. Mutacje genu WT1 stwierdzono w chorobach rozrostowych, takich jak białaczka, retinoblastoma, rak piersi, płuc, a także guz Wilmsa [76]. Podczas rozwoju embrionalnego ssaków WT1 wykazuje ekspresję na wielu tkankach, w tym w układzie moczowo-płciowym, w śledzionie, mózgu, rdzeniu kręgowym, komórkach mezotelialnych, w przeponie, kończynach, okrężnicy i sercu. W związku z tym uszkodzenie genu WT1 u myszy powoduje agenezję gonad, nerek oraz ciężkie wady serca, śledziony, przepony, płuc i nadnerczy, a także niedorozwój siatkówki i nerwu wzrokowego [76].

WT1 jest głównym białkiem biorącym udział w różnicowaniu komórek kłębuszka i powstawaniu nerek, co potwierdza zahamowanie rozwoju nerek na poziomie metanefronu u pozbawionych tego białka myszy [9]. We wczesnych stadiach rozwoju kłębuszka WT1 wykazuje ekspresję na wielu komórkach progenitorowych, podczas gdy w dojrzałym kłębuszku jego ekspresja ogranicza się do podocytów. WT1 jest czynnikiem transkrypcyjnym i potranskrypcyjnym, zawiera cynk, który reguluje proliferację, a także jest niezbędny do utrzymania prawidłowego fenotypu podocyta [47]. Potranskrypcyjna modyfikacja pre-mRNA genu WT1 prowadzi do powstania ponad 24 izoform, które wydają się pełnić różne funkcje [76]. WT1 wpływa na ekspresję podokaliksyny i nefryny [53,76], a także powoduje obniżenie ekspresji Pax2, co powoduje zanik tego białka od stadium pętli naczyniowej [80].

WT1 odgrywa ważną rolę w utrzymaniu prawidłowej czynności podocyta, a w konsekwencji prawidłowej morfologii kłębuszka. Przemawiają za tym następujące fakty:

- 1) gen WT1 jest zmutowany u 94% pacjentów z zespołem Denys-Drash, gdzie występuje sklerotyzacja kłębuszków, zwiększone ryzyko wystąpienia guza Wilmsa oraz pseudohermafrodytyzm typu męskiego [54];
- 2) u myszy mutacja genu WT1 powoduje sklerotyzację kłębuszków przebiegającą z pogrubieniem błony podstawnej i fuzją wyrostków stopowatych podocytów [22];
- 3) mutację WT1 stwierdzono u chorych z zespołem nerczycowym [26].

Mutacja genu WT1 występuje też w zespole Frasiera, związanym z ogniskową sklerotyzacją kłębuszków, męskim obojnactwem rzekomym i występowaniem gonadoblastomy [7] oraz w zespole WAGR cechującym się występowaniem guza Wilmsa, deformacją układu moczowo-płciowego, upośledzeniem umysłowym oraz brakiem tęczęwki [76].

W następnym etapie, podczas stadium S-kształtnego, pierwotne komórki mezenchymalne przekształcają się w komórki epitelialne ze szczelnymi połączeniami międzykomórkowymi, umiejscowionymi w szczytowej części komórki,

czemu towarzyszy pojawienie się białka ZO-1 (zonula occludens) i kadheryny [73]. W tym stadium podocyty wykazują figury mitotyczne, czego wyrazem jest znaczna ekspresja jądrowego antygenu komórek ulegających rozplemowi (proliferating cell nuclear antigen – PCNA) [48]. Na tym etapie pojawia się również ekspresja receptora erytropoetyny, która wzrasta osiągając szczyt w dojrzałym podocycie [18].

W stadium S-kształtnym podocyty zaczynają także wykazywać ekspresję neprylizyny, określanej inaczej jako białko CD10, enkefalinaza, obojętna endopeptydaza lub antygen ostrej białaczki limfoblastycznej (common acute lymphoblastic leukemia antygen – CALLA) [57]. Jest to zależna od cynku metalopeptydaza o ciężarze 90–110 kDa [15], włączona w metabolizm wielu białek regulatorowych i białek sygnałowych na powierzchni komórki. Inaktywuje liczne hormony peptydowe m.in. glukagon, enkefalinę, neurotensynę, oksytocynę, bradykininę, substancję P, peptyd chemotaktyczny fMLF (f-Met-Leu-Phe), przedsiorkowy czynnik natriuretyczny (ANP) oraz angiotensynę I i II [15,42]. Jest zaangażowana w liczne procesy fizjologiczne, w tym: analgezję indukowaną enkefalinami, hipotensję wywołwaną przez ANP, diurezę, utrzymywanie napięcia dróg oddechowych, chemotaksję oraz rozkład amyloidu β w mózgu [42]. Oprócz podocytów, ekspresję CD10 wykazano na komórkach białaczkowych o fenotypie pre-B, prekursorach limfocytów, granulocytach, fibroblastach oraz komórkach nabłonkowych wątroby, płuc, żołądka, macicy, pęcherza moczowego, prostaty, soczewki oka oraz mózgu [44]. Białko to można również znaleźć w surowicy i w moczu oraz na komórkach guza Wilmsa [16]. W nerce ludzkiej, oprócz podocytów, enkefalinazę wykrywa się na komórkach mięśni gładkich naczyń oraz na rąbku szczytówkowym nabłonka cewek proksymalnych [63]. Neprylizyna jest integralnym białkiem błonowym zbudowanym z 749 aminokwasów. 700 aminokwasów C-końcowych tworzy hydrofilowy fragment pozakomórkowy, 25 aminokwasów N-końcowych hydrofilowy fragment cytoplazmatyczny, a pozostały 24-aminokwasowy fragment hydrofobowy może służyć zarówno jako fragment przezbłonowy, jak i peptyd sygnałowy [42].

W kolejnym etapie, zwanym stadium pętli nacyniowej, podocyty wytwarzają wyrostki stopowate, co wiąże się z pojawieniem białek charakterystycznych dla tych struktur. Są to m.in.: podokaliksyna, podoplanina, kłębuszkowe białko epithelialne 1 (glomerular epithelial protein 1 – GLEPP1), synaptopodyna i receptor składowej dopełniacza C3b (C3bR). Białka te występują również w dojrzałych podocytach i służą za markery ich dojrzałości. Odpowiadają one za prawidłową strukturę i funkcjonowanie wyrostków stopowatych podocytów [45].

Podokaliksyna jest najważniejszą sjaloproteiną glikokaliksu, która decyduje o jego ujemnym naładowaniu. Przez związek z aktyną cytoszkieletu, podokaliksyna wpływa na selektywną przepuszczalność bariery filtracyjnej i strukturę wyrostków stopowatych podocytów [47]. Białko to ma właściwości przeciwadhezyjne i zapobiega zlepianiu się wyrostków stopowatych, przez co utrzymuje otwarte błony szczelinowe. Usunięcie kwasu sjalowego z podokaliksyny powoduje adhezję komórek i wzrost przepuszczalności połączeń międzykomórkowych [3]. Podokaliksyna jest

umiejscowiona w szczytowej części podocyta, nie występuje natomiast w części przypodstawnej wyrostków stopowatych [63].

Podokaliksyna jest związana z aktyną przez ezrynę, która należy do rodziny białek łączących z cytoszkieletem [38]. Z kolei czynnikiem łączącym podokaliksynę z ezryną jest czynnik regulujący wymianę sodowo-wodorową (sodium-hydrogen exchanger regulatory factor – NHERF). Podokaliksyna, NHERF i ezryna tworzą kompleks, który reaguje z aktyną cytoszkieletu. Interakcję tę można zaburzyć przez podanie szczyrom aminonukleozydu puromycyny. Pojawienie się nefropatii jest związane ze znacznym ubytkiem wyrostków stopowatych, podobnie jak w zespole nerczycowym u ludzi [72]. U myszy z brakiem genu podokaliksyny, mimo obecności podocytów, nie dochodzi do formowania wyrostków stopowatych i błon szczelinowych. W zamian tworzą się kompleksy komórkowe z połączeniami o typie przylegania, przez co zmniejszeniu ulega powierzchnia filtracyjna kłębuszka i obserwuje się obniżone wytwarzanie moczu [17]. Oprócz podocytów, ekspresję podokaliksyny wykazują komórki śródbłonka [25], komórki raka zarodkowego, guzów jąder, złośliwe komórki hematopoetyczne [65] oraz komórki mezotelium i płytki krwi [30].

Podoplanina jest glikoproteiną błonową podocytów o ciężarze 43 kDa, umiejscowioną wyłącznie w szczytowej części wyrostków stopowatych. Białko temu przypisuje się zdolność do kontrolowania kształtu wyrostków stopowatych [43]. Breiteneder-Geleff i wsp. zauważyli, że zmniejszona ilość podoplaniny wiązała się ze spłaszczeniem wyrostków stopowatych [12]. Podoplanina jest też jednym z białek, które odgrywają rolę w połączeniu między wyrostkami stopowatymi i błoną podstawną. Podanie szczyrom przeciwciał przeciwko podoplaninie powoduje zanik wyrostków stopowatych i pojawienie się białkomoczu [12]. Oprócz podocytów, ekspresję podoplaniny wykazano na pneumocytach typu I, komórkach mezotelium, osteocytach, osteoblastach oraz w tkance limfatycznej [13].

GLEPP1 jest integralnym białkiem błonowym o ciężarze 132 kDa, o właściwościach fosfatazy tyrozynowej. Białko to ma dużą część pozakomórkową, zawierającą m.in. domenę fibronektyny, hydrofobową domenę przezbłonową oraz fragment cytoplazmatyczny, odpowiadający fosfatazie tyrozynowej. Białko to jest umieszczone w szczytowej powierzchni wyrostków stopowatych podocytów [74]. GLEPP1 jest zaangażowane w regulację struktury i funkcji wyrostków stopowatych przez udział w fosforylacji tyrozyny białek podocytów. Podobnie, jak w przypadku białek opisanych powyżej, pojawienie się ekspresji GLEPP1 świadczy o końcowym zróżnicowaniu komórkowym podocytów [74].

Kolejnym białkiem zaangażowanym w budowę i funkcjonowanie wyrostków stopowatych jest synaptopodyna, białko bogate w prolinę. Umożliwia to oddziaływanie z takimi samymi regionami innych białek. Synaptopodyna jest umiejscowiona w cytoplazmie wyrostków stopowatych i wykazuje linijne rozmieszczenie wzdłuż filamentów aktynowych. Po podaniu cytochalazyny B, substancji powodującej depolimeryzację aktyny, ta linijna ekspresja zostaje zaburzona. Synaptopodyna odgrywa ważną rolę w regulacji

kształtu i ruchliwości wyrostków stopowatych podocytów. Pojawienie się ekspresji tego białka świadczy o znacznym zaawansowaniu rozwoju cytoszkieletu, dlatego synaptopodyna jest ważnym markerem dojrzałości fenotypowej podocyta [46]. Oprócz podocytów kłębuszka nerkowego, ekspresję synaptopodiny stwierdzono również na dendrytach neuronów ośrodkowego układu nerwowego, gdzie jest ono związane ze strukturą synaps. Również tutaj, pojawienie się ekspresji synaptopodiny świadczy o dojrzałości struktur synaptycznych. W obu przypadkach ekspresja tego białka koreluje z formowaniem wypustek komórkowych, które są niezwykle ważne dla funkcjonowania tak neuronów, jak i podocytów [46]. U myszy wykazujących brak synaptopodiny występuje uszkodzenie aparatu synaptycznego oraz indukowane siarczanem protaminy zlewanie się wyrostków stopowatych podocytów i zespół nerczycowy [4]. Synaptopodyna występuje w trzech izoformach: neuronalna Synpo-short długości 685 aminokwasów, nerkowa Synpo-long długości 903 aminokwasów oraz skrócona Synpo-T licząca 181 aminokwasów. C-końcowy fragment Synpo-long jest identyczny z podobnym fragmentem Synpo-T. Wszystkie powyższe izoformy oddziałują z α -aktyniną i powodują wydłużanie filamentów aktynowych [4]. U myszy pozbawionych synaptopodiny brak jest ekspresji Synpo-short i Synpo-long, natomiast zwiększona ekspresja Synpo-T, lecz tylko w podocytach, a nie w mózgu. Synpo-T stanowi zatem „zaplecze” (backup) u myszy pozbawionych synaptopodiny [4].

W fazie pętli naczyniowej, jednocześnie z ekspresją synaptopodiny, na podocytach pojawia się ekspresja C3bR, nazywanego także receptorem 1 dopełniacza (complement receptor 1 – CR1). CR1 jest rozmieszczony wzdłuż całej błony plazmatycznej podocyta. Oprócz podocytów jest umiejscowiony również na monocytach, erytrocytach, neutrofilach, eozynofilach i limfocytach B. Jest integralną glikoproteiną błonową o ciężarze 210 kDa, bezpośrednio inaktywującą składowe C3b i C4b dopełniacza, działa również pośrednio jako kofaktor czynnika I – surowiczej proteazy serynowej, która rozszczepia C3b i C4b [50].

Innym białkiem odgrywającym istotną rolę w regulacji struktury podocytów jest białko szoku termicznego 27 (heat shock protein – hsp27). Białka szoku termicznego to rodzina obejmująca białka wewnątrzkomórkowe, których ekspresja wzrasta w odpowiedzi na liczne czynniki uszkodzające, w tym wysoką temperaturę i czynniki metaboliczne. Są one zaangażowane w wytwarzanie, przemieszczanie, funkcjonowanie i degradację białek wewnątrzkomórkowych [70]. W nerkach wykazano ekspresję wielu białek szoku termicznego, o zróżnicowanej masie cząsteczkowej (hsp-60, -72, -90). Badania dotyczące hsp27 wykazały, że białko to jest czynnikiem obronnym przed uszkodzeniem termicznym i metabolicznym oraz reguluje wzrost i różnicowanie komórkowe, a także hamuje polimeryzację aktyny *in vitro* [70]. Hsp27 jest składnikiem drogi przenoszącej sygnały dotyczące dynamiki filamentów aktynowych, ulega fosforylacji na skutek aktywacji kinazy białkowej przez interleukinę 1. Zwiększoną ekspresję hsp27 i fosforylację oraz zanik wyrostków stopowatych podocytów zaobserwowano w eksperymencie z zespołem nerczycowym u szczurów po podaniu puromycyny. Powyższe wyniki sugerują, że hsp27 odgrywa ważną rolę w powstawaniu patofizjologicznych zmian cytoszkieletu w przebiegu zespołu nerczycowego. Prawdopodobnie bo-

dziec uszkodzający bezpośrednio stymuluje ekspresję hsp27 i fosforylację, co powoduje zaburzenie równowagi między polimeryzacją i depolimeryzacją aktyny i w konsekwencji zniszczenie struktury wyrostków stopowatych objawiające się morfologicznie ich zanikiem i klinicznie białkomoczem [70]. Inna teoria mówi, że zanik wyrostków stopowatych jest bezpośrednią reakcją na bodziec, co w konsekwencji powoduje wzrost ekspresji hsp27 i dezorganizację mikrofilamentów aktynowych. Wykazano również, że w przebiegu procesu zaniku wyrostków stopowatych dochodzi do przemieszczenia się hsp27 z ciała komórki do wyrostków stopowatych [70]. Smoyer i wsp. zaobserwowali, że hsp 27 reguluje odpowiedź aktyny cytoszkieletu podocytów na uszkodzenie indukowane przez aminonukleozyd puromycyny w modelu eksperymentalnym zespołu nerczycowego [71].

Dwoma kolejnymi białkami umiejscowionymi w wyrostkach stopowatych podocytów są trójfosfataza guanozyny, Rab3A i wiązana przez to białko rabfilina 3A (rabphilin-3A). Białka te są również obecne w neuronach i komórkach endokrynych; odgrywają zasadniczą rolę w uwalnianiu neuroprzekazników. Rabfilina-3A jest białkiem pęcherzyków synaptycznych i wiąże się z Rab3A w miejscu wiążącym GTP. Kompleks ten jest niezbędny do prawidłowego umiejscowienia pęcherzyków synaptycznych w błonie komórkowej. W wypadku braku Rab3A rabfilina-3A może wiązać się do α -aktyniny cytoszkieletu, zwiększając w ten sposób wytwarzanie filamentów aktynowych. Poza tym rabfilina ma również zdolność wiązania wapnia i fosfolipidów [73]. Rastaldi i wsp. z użyciem mikroskopu elektronowego wykazali obecność tego białka dookoła pęcherzyków występujących w wyrostkach stopowatych podocytów. Zaobserwowali oni również zwiększoną ekspresję Rab3A u myszy z indukowaną transgeniczną ekspresją hormonu wzrostu w porównaniu z myszami typu dzikiego oraz chorych z białkomoczem [58].

W stadium pętli naczyniowej rozpoczyna się również proces przekształcania szczelnych połączeń międzykomórkowych w błony szczelinowe. Towarzyszy temu przemieszczenie się białka ZO-1 z części szczytowej komórki w dół, do poziomu błon szczelinowych oraz pojawienie się białek związanych z tymi strukturami [64]. W stadium tym następuje zakończenie różnicowania się podocytów, które tracą swoją aktywność mitotyczną. Zanika też m.in. ekspresja cytokeratyny, pojawia się natomiast ekspresja wimentyny. Wimentyna jest swoistym dla podocytów składnikiem filamentów pośrednich i umiejscawia się w ciele podocyta, a nie w wyrostkach stopowatych [8,49]. Towarzyszy temu wzrost ekspresji inhibitorów cyklu komórkowego: p27 i p57 [48,49], jak i spadek ekspresji białek powodujących postęp cyklu: PCNA, Ki-67 oraz cykliny A i B [49]. W dojrzałym kłębuszku podocyty charakteryzują się znacznym stopniem zróżnicowania. Mechanizmy regulujące różnicowanie podocytów są bardzo skomplikowane i nadal nie do końca poznane. Wykazano, że białka macierzy pozakomórkowej mogą się przyczyniać do powstawania sygnałów wewnątrzkomórkowych, regulujących morfogenezę podocytów, czego przykładem jest pobudzający wpływ lamininy na formowanie wyrostków stopowatych *in vitro* [32].

CYKL KOMÓRKOWY PODOCYTA

Białka regulujące cykl komórkowy podocytów można podzielić na dwie grupy: białka pozytywne, które powodują

postęp i ukończenie cyklu komórkowego, tj. cykliny (cyklina A, B, C, D, E) i zależne od cyklin kinazy (kinazy: 1, 2, 4 i 6) oraz białka negatywne, tzn. inhibitory kinaz cyklinowych (p21, p27, p57), które utrzymują komórkę w fazie G1 przez inaktywację kompleksów cyklin i zależnych od nich kinaz. Postęp cyklu komórkowego zależy od przewagi kinaz cyklinowych nad ich inhibitorami. Cykliny mają bardzo krótki czas półtrwania (30–60 min), a ich poziom ulega zmianie w czasie cyklu komórkowego. Natomiast ekspresja zależnych od cyklin kinaz ma charakter konstytutywny i ich poziom pozostaje niezmienny przez cały czas trwania cyklu [67,68]. Przejście z fazy G0 do wczesnej fazy G1 wymaga obecności cyklin typu D (D1, D2, D3) [67,68]. Na początku fazy G1 cyklu komórkowego, cyklina D1 aktywuje kinazy 4 i 6. Inhibitory wzrostu, takie jak interferon γ i transformujący czynnik wzrostu β (TGF- β) hamują transkrypcję cyklin typu D [68]. Substratem kinazy zależnej od cykliny D jest białkowy produkt genu pRb, który reguluje przejście z fazy G1 do fazy S [68]. Poziom cykliny E wzrasta w późnej fazie G1. Pod koniec fazy G1, cyklina E aktywuje kinazę 2, co odgrywa główną rolę w przejściu z fazy G1 do fazy S [68]. Cyklina A osiąga najwyższy poziom w późnej fazie G1, jest on maksymalny w czasie trwania fazy S i utrzymuje się również w czasie fazy G2. Cyklina A aktywuje kinazę 2 w fazie S, która jest niezbędna do syntezy DNA [68]. Natomiast cyklina B aktywuje kinazę 1 podczas mitozy [67].

Marker proliferacji Ki-67 wpływa na przejście komórki z fazy G1 do S, a więc jego ekspresja świadczy o przebiegającej syntezie DNA. Ki 67 wykazuje ekspresję w późnej fazie G1, w fazie S, G2 oraz w fazie M cyklu komórkowego, natomiast nie można go wykryć w fazie G0. Cykliny A i B1 oraz Ki-67 nie wykazują ekspresji na podocytach po fazie pętli naczyniowej, co świadczy o braku aktywności mitotycznej podocytów [48].

Dojrzałe podocyty wykazują natomiast ekspresję inhibitorów proliferacji p27, p57 oraz cykliny D1 [68]. P27 reguluje zatrzymanie cyklu komórkowego w odpowiedzi na TGF- β , ryfampicynę i cAMP [68]. Oddziaływanie p27 z kompleksami cyklin i zależnych od nich kinaz jest bardziej skomplikowane niż dotychczas sądzono, ponieważ p27 może być zarówno inhibitorem, jak i substratem kompleksu cykliny E z kinazą 2. Białko p27 hamuje kompleks cykliny E i kinazy 2 w fazie G0. P57 wiąże natomiast kinazę 2, 3 i 4 i powoduje zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G1 [68].

Białka p15, p16, p18, p19, p20 stanowią rodzinę inhibitorów cyklu hamujących kinazę 4 i 6 w fazie G1 [68]. Zależna od TGF- β indukcja p15 hamuje kompleks cykliny D z kinazą 4 przez wyparcie p27 z tego kompleksu i hamowanie kompleksu cykliny E z kinazą 2 [68].

Białka p57 i p27 wykazują jednoczesną ekspresję na wielu komórkach postmitotycznych, w tym na komórkach zwojów nerwowych, w soczewce płodowej, komórkach endokardium oraz na podocytach począwszy od stadium pętli naczyniowej [48]. Przetrwiała ekspresja tych białek na dojrzałych podocytach świadczy o ich znaczeniu w utrzymaniu stanu niezdolności do proliferacji. Jednak myszy ze zmutowanym genem p27 nie wykazywały skróconego czasu przeżycia, a rozwój nerek przebiegał prawidłowo

[48]. Również u myszy ze zmutowanym genem p57 rozwój kłębuszków nerkowych był prawidłowy [23]. Natomiast u myszy z mutacją obu genów, p27 i p57, rozwój kłębuszków był nieprawidłowy i przebiegał ze zwiększoną liczbą podocytów i zwiększoną wielkością kłębuszków [80]. Powyższe wyniki sugerują, że mutacje dotyczące tylko jednego inhibitora nie odgrywają tak ważnej roli w różnicowaniu kłębuszka i podocytów. Jego brak jest prawdopodobnie kompensowany przez inne białka o podobnej funkcji. Obydwa białka są jednak włączone w regulację liczby podocytów podczas glomerulogenezy, a także odpowiadają za hamowanie aktywności proliferacyjnej w dojrzających podocytach [75].

Prawidłowy rozwój nerek u myszy ze zmutowanym genem p21 sugeruje, że białko to nie odgrywa roli w glomerulogenezie [75]. Białko p21 nie występuje w dojrzających podocytach. P21 wiąże się z zależnymi od cyklin kinazami oraz z PCNA – czynnikiem α polimerazy DNA przez C-kończącą domenę, co może być wystarczające do zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G1 [48]. Ciekawym wydaje się to, że ekspresja p21 wzrasta podczas proliferacji, i że białko to pozostaje związane z kompleksem kinaz zależnych od cyklin w komórkach proliferujących [68]. Wykazano, że ekspresja p21 jest stymulowana przez WT1. Obydwa białka ulegają ekspresji na podocytach płodowych [19]. Mikroiniekcja cDNA genu WT1 hamuje progresję cyklu komórkowego do fazy S przez hamowanie kompleksu cyklin [48].

Kolejnym białkiem przypuszczalnie wpływającym na syntezę inhibitorów cyklu komórkowego jest bcl-2. Ekspresja bcl-2 jest znaczna w czasie stadium S-kształtnego, kiedy białka p27 i p57 są jeszcze nieobecne. Natomiast w stadium pętli naczyniowej ekspresja bcl-2 spada, co koreluje ze wzrostem ekspresji inhibitorów cyklu [48]. Mechanizmy regulujące ekspresję inhibitorów cyklu komórkowego w podocytach nie zostały dotychczas całkowicie poznane. Chociaż pewną rolę w ich degradacji może odgrywać układ ubikwityny, jednak czynniki pobudzające lub hamujące syntezę tych białek nie zostały zidentyfikowane [48].

Obecność inhibitorów cyklu komórkowego w dojrzających i prawidłowo funkcjonujących podocytach sugeruje, że niezdolność do podziału jest cechą niezbędną do końcowego różnicowania i pozwala na prawidłowe funkcjonowanie podocytów, a co za tym idzie całego kłębuszka nerkowego [48].

BUDOWA I FUNKCJA DOJRZAŁYCH PODOCYTÓW ORAZ BARIERY FILTRACYJNEJ

Podocyty wyściełają zewnętrzną powierzchnię błony podstawnej kłębuszka nerkowego. Każdy z podocytów jest związany z więcej niż jedną tętniczką, a każda tętniczka jest pokryta przez kilka podocytów. Pod względem cytoarchitektonicznym podocyty można podzielić na trzy strukturalne i funkcjonalne segmenty: ciało komórki, wyrostek większy i wyrostek stopowaty. Wyrostek stopowaty zawiera aparat kurczliwy zbudowany m.in. z aktyny, miozyny, aktyniny, taliny, winkuliny i wimentyny [70]. Wyrostek większy natomiast ma dobrze rozwinięty cytoskielet zbudowany z mikrotubul i filamentów pośrednich [33]. Mikrotubule są spolaryzowanymi polimerami hetero-

dimerów tubuliny mającymi szybko rosnący koniec dodatni oraz wolno rosnący ujemny. Kobayaschi i wsp. zaobserwowali, że mikrotubule podocytów wykazują niejednorodną polarność stabilizowaną przez CHO1/MKLP1 (a kinesin-like motor protein). Ponadto wykazali oni, że niejednorodna polarność mikrotubul podocytów jest niezbędna do formowania wyrostków [33].

Główną rolą podocytów jest udział w filtracji kłębuszkowej. Filtrat kłębuszkowy przepływa w sposób ściśle określony, przechodząc kolejno przez okienka śródbłonka, błonę podstawną oraz błony szczelinowe, zamykające szczeliny między wyrostkami stopowatymi podocytów.

Błony szczelinowe są najważniejszym elementem w funkcjonowaniu bariery filtracyjnej kłębuszka. Są one zakotwiczone w podstawno-bocznym regionie wyrostków stopowatych podocytów i łączą je ze sobą [29]. Zbudowane są z wielu białek, które tworzą funkcjonalny kompleks. Głównymi białkami budującymi i wzmacniającymi błony szczelinowe są nefryna i podocyna.

Nefryna jest białkiem przezbłonowym o ciężarze 135 kDa, należącym do nadrodziny immunoglobulin. Jest to białko adhezyjne, swoiste dla podocytów, a jego podstawową funkcją jest formowanie szkieletu błon szczelinowych [56]. Mutację genu nefryny stwierdzono we wrodzonym zespole nerczycowym typu fińskiego dziedziczonym autosomalnie recesywnie [56], który charakteryzuje się dużym białkomoczem, występującym już wewnątrzmacicznie [14]. Badanie histologiczne uwidocznia niedojrzałe kłębuszki ze zlewaniem się wyrostków stopowatych podocytów, brak uformowanych błon szczelinowych oraz rzekomo torbielowate poszerzenie cewek proksymalnych [14]. U myszy pozbawione genu nefryny prowadzi do dużej utraty białek surowicy, podczas gdy genetyczny defekt białek błony podstawnej powoduje tylko nieznaczne ich wydalanie. Wskazuje to, że błony szczelinowe mają większe znaczenie niż błona podstawna dla wybiórczej przepuszczalności białek przez filtr kłębuszkowy [27]. Badania na ludzkich nerkach płodowych wykazały, że przy braku nefryny nie dochodzi do dojrzewania błon szczelinowych [27]. W rozwoju płodowym już mutacja jednego allelu genu nefryny powoduje białkomocz, podwyższone stężenie α -fetoproteiny w płynie owodnionym i/lub krwi ciężarnej oraz zanik wyrostków stopowatych podocytów. W życiu pozapłodowym, do wystąpienia zespołu nerczycowego konieczna jest mutacja obu alleli genu nefryny. Wynika z tego, że podczas dojrzewania kłębuszka oba allele tego genu są niezbędne do prawidłowej syntezy nefryny, w późniejszym okresie życia jeden allel wystarczy do zachowania prawidłowego funkcjonowania nerek [55]. Nefryna ma fragment pozakomórkowy, przezbłonowy i wewnątrzkomórkowy. Fragment pozakomórkowy tworzy sieć homofilowych i heterofilowych połączeń tworzących rusztowanie błon szczelinowych, natomiast fragment wewnątrzkomórkowy oddziałuje z takimi białkami jak CD2AP, podocyna i kinazy uczestnicząc w przekazywaniu sygnałów z błon szczelinowych do wnętrza podocytów [40]. Nefryna jest ściśle powiązana z białkami charakterystycznymi dla połączeń międzykomórkowych, takimi jak MAGI-2 (membrane-associated guanylate kinase inverted 2), IQGAP1 (IQ motif-containing GTPase-activating protein1), CASK (calcium/calmodulin-dependent serine protein kinase), α -ak-

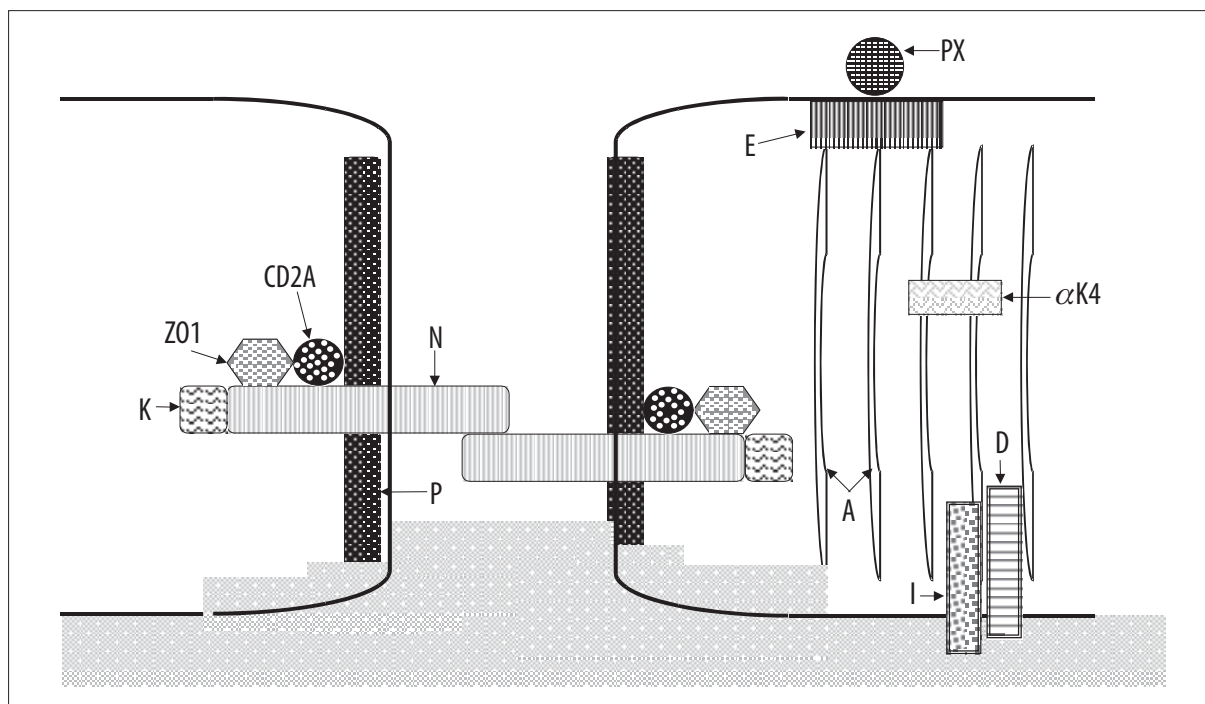
tynina, α II spektryna i β II spektryna [39]. Wydaje się, że białka te odgrywają główną rolę w regulacji przepuszczalności błon szczelinowych, zarówno w czasie rozwoju, jak i w dojrzałym kłębuszku [39].

Kolejnym białkiem błon szczelinowych jest podocyna [11]. Podocyna jest integralnym białkiem błonowym o ciężarze 42 kDa i łączy się z cytoplazmatyczną częścią nefryny oraz z dwoma innymi białkami: białkiem związanym z CD2 (CD2-associated protein – CD2AP) oraz białkiem podobnym do nefryny, Neph1 [27]. Podocyna jest potrzebna do utrzymania stabilności tego kompleksu osadzonego w specjalnym obszarze błony komórkowej bogatym w lipidy [27]. Mutacje podocyny są odpowiedzialne za występowanie genetycznie uwarunkowanego zespołu nerczycowego (dziedziczenie autosomalne recesywne), jak i zdarzające się sporadycznie [11]. Obraz kliniczny w tych przypadkach wykazuje duże zróżnicowanie, od objawów zespołu nerczycowego pojawiającego się wcześniej po urodzeniu, podobnie jak w przypadku mutacji genu nefryny, do ujawnienia się tych objawów w drugiej dekadzie życia. Bertelli i wsp. zaobserwowali pojawianie się ogniskowej i segmentalnej sklerotyzacji kłębuszków po przeszczepie nerki u chorych z mutacją genu podocyny. Wyniki te sugerują istnienie czynnika surowiczego biorącego udział w patogeniezie wrodzonego segmentalnego/ogniskowego stwardnienia kłębuszków nerkowych (focal-segmental glomerulosclerosis – FSGS) [10].

CD2AP jest białkiem adaptorowym o ciężarze 80 kDa, które oddziałuje z CD2, białkiem przezbłonowym limfocytów T i komórek NK. Składa się z pięciu części: fragmentu N-końcowego, zawierającego miejsce wiążące aktynę, regionu bogatego w prolinę oraz trzech fragmentów zawierających siarkę [78]. CD2AP wykazuje dużą ekspresję we wszystkich tkankach organizmu ludzkiego, w nerkach jest obecne w podocytach, komórkach cewek proksymalnych i kanalików zbiorczych [21]. U myszy brak CD2AP wywołuje postępującą sklerotyzację kłębuszków, która przebiega z białkomoczem i zanikiem wyrostków stopowatych [69]. Wykazano, że myszy pozbawione CD2AP z indukowaną jedynie nerkową ekspresją tego białka, poza niepłodnością, były fenotypowo prawidłowe, co sugeruje największe znaczenie CD2AP w prawidłowym funkcjonowaniu nerek [21].

Nefryna i podocyna należą do białek sygnałowych, przekazujących informacje z zewnątrz komórki do jej wnętrza. Prawdopodobnie właściwe oddziaływanie nefryny z podocyną i CD2AP ma zasadnicze znaczenie dla przepływu płynów, elektrolitów i białek przez barierę filtracyjną [66].

Neph1 jest niedawno poznanym białkiem, które współdziała z nefryną w formowaniu szkieletu błon szczelinowych. Neph1 należy do rodziny trzech podobnych białek (Neph1, -2, -3). Ma pięć pozakomórkowych fragmentów i fragment wewnątrzkomórkowy, wiążący C-końcowy odcinek podocyny. Zarówno nefryna, jak i Neph1 są substancjami sygnałowymi, które mogą aktywować wewnątrzkomórkowe kinazy [27]. Niedawne badania wykazały obecność również Neph2 w obrębie błon szczelinowych oraz interakcje tego białka z fragmentem pozakomórkowym nefryny [20]. Nie zaobserwowano natomiast oddziaływań między Neph1 i Neph2. Ponadto zanotowano obecność Neph2



Ryc. 1. Uproszczony schemat budowy błony szczelinowej – rozmieszczenie głównych białek; PX – podokaliksyna, E – ezyra, A – aktyna, αK4 – α-aktynina 4, I – β-integryna, D – dystroglikan, N – nefryna, P – podocyna, CD2AP – białko związane z CD2, ZO-1 – zonula occludens-1, K – kateniny

w moczu osób zdrowych, co sugeruje, że w prawidłowych warunkach białko to jest usuwane. Proces ten jest nasilany przez inhibitory fosfatazy tyrozynowej, a zmniejszany przez inhibitory metaloproteinaz [20].

Kolejnym białkiem należącym do kompleksu błony szczelinowej jest α-aktynina 4, która wiąże aktynę [28]. Odgrywa ono ważną rolę zarówno w rozluźnianiu wiązań krzyżowych filamentów aktynowych, powodującym zwiększoną kurczliwość, jak i w formowaniu kompleksu mocującego końce filamentów aktynowych do błony komórkowej podocyta [70]. Poza tym, α-aktynina 4 wiąże cytoplazmatyczną część β-integryny, przez co się przyczynia do przylegania wyrostków stopowatych do błony podstawnej [70]. Istnieją cztery izoformy α-aktyniny. Izofomy 2 i 3 występują prawie wyłącznie w sarkomerach, a izofomy 1 i 4 wykazują dużą ekspresję, jednakże w nerkach znacząca jest tylko ekspresja α-aktyniny 4 [35]. Mutacje α-aktyniny 4 są odpowiedzialne za pojawienie się białkomoczu w rzadkich przypadkach zespołu nerczycowego dziedzicznego autosomalnie dominująco [28]. Honda i wsp. zaobserwowali, że izoforma 4 jest nieobecna w ogniskowych zlepkach (adhesions) i połączeniach o typie przylegania, gdzie można stwierdzić obecność izoformy 1 [24]. Kos i wsp. wykazali, że w u myszy brak α-aktyniny 4 powoduje zanik wyrostków stopowatych podocytów, ogniskowy u młodych osobników i rozsiany u starszych. Brak α-aktyniny 4 ma również bezpośredni wpływ na aktynę cytoszkieletu, powodując zwiększenie płynności cytoszkieletu, zaburzenie ruchliwości wyrostków stopowatych oraz przylegania komórkowego prowadzące do wytworzenia nieprawidłowych interakcji między podocytami i błoną podstawną [35]. Ostatnie badania podkreślają znaczenie wzajemnych oddziaływań między nefryną, podocyną i α-aktyniną w prawidłowym

funkcjonowaniu błon szczelinowych. W proponowanym modelu nefryna jest połączona z α-aktyniną cytoszkieletu przez podocynę (ryc. 1) [66].

Niedawno poznany białkiem, wchodzącym w skład kompleksu związanego z nefryną jest densyna. Jest to białko o ciężarze 210 kDa należące do rodziny białek adhezyjnych. Wcześniej było ono identyfikowane jedynie w ośrodkowym układzie nerwowym, gdzie odpowiada za utrzymywanie kształtu i polarności komórek nerwowych poprzez interakcje z α-aktyniną 4. Według Ahola i wsp. w podocytach densyna spełnia podobne funkcje [2].

Białka pozakomórkowe tworzące szkielet błon szczelinowych (nefryna, Neph1) są ściśle związane z aktyną cytoszkieletu wyrostków stopowatych przez takie białka jak podocyna, CD2AP, zonula occludens-1 (ZO-1) i kateniny. Nefryna jest połączona z CD2AP, natomiast Neph1 oddziałuje głównie z ZO-1 [27]. Defekt genetyczny dotyczący nefryny i Neph1, które tworzą szkielet błon szczelinowych, powoduje znaczny białkomocz zaraz po urodzeniu, natomiast defekt białek wewnątrzkomórkowych błon (CD2AP, podocyny i α-aktyniny 4) objawia się umiarkowanym białkomoczem w późniejszym wieku [11]. Sugeruje się, że nieprawidłowe współdziałanie białek szkieletu błon szczelinowych z aktyną cytoszkieletu stanowi wspólny etap prowadzący do zaniku wyrostków stopowatych w chorobach przebiegających z białkomoczem [27].

Ważnym elementem błon szczelinowych jest również kanał jonowy – TRPC6 (canonical transient receptor potential 6) [62]. TRPC6 należy do rodziny TRP (transient receptor potential) – kationo-selektywnych kanałów jonowych. Podrodzina TRPC obejmuje grupę kanałów kationowych,

które są istotne dla wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia wapnia w wyniku stymulacji receptorów białka G i kinazy tyrozynowej. Kanały te tworzą homo- i heterotetramery, które mogą oddziaływać z wieloma innymi białkami. Reiser i wsp. wykazali mutacje genu TRPC6 na chromosomie 11 w pięciu rodzinach z autosomalnym dominującym FSGS przebiegającym z białkomoczem i niewydolnością nerek [62]. Powyższe dane wskazują na istotną rolę TRPC6 w utrzymaniu prawidłowej struktury i funkcji podocytów.

Reiser i wsp. podali hipotezę, że błony szczelinowe są zmodyfikowanymi połączeniami o typie przylegania, gdyż wykazują obecność białek typowych dla stref przylegania: P-kadheryny, α -, β -, γ -kateniny i ZO-1. W odróżnieniu od połączeń tego typu w hodowlach fibroblastów nie zawierają jednak winkuliny [60]. Obecność ZO-1 w błonach szczelinowych nakłania do porównania ze szczelnymi połączeniami (tight junction), mimo znacznych różnic funkcjonalnych i ultrastrukturalnych. Białko to wykazuje zwiększoną fosforylację w nefropatii wywołanej przez puromycynę u szczurów, co prawdopodobnie jest związane z kompensacyjnym wzrostem przepuszczalności błon szczelinowych, analogicznie do wywołanego fosforylacją ZO-1 wzrostu przepuszczalności w szczelnymi połączeniach [38]. Szczególnie ważną rolę w wytwarzaniu połączeń między podocytami odgrywa Fat1 – białko należące do nadrodziny kadheryn umiejscowione w obszarze błon szczelinowych [81].

Czynnikiem, który wydaje się mieć znaczenie w przyleganiu podocytów do błony podstawnej jest białko przezbłonowe wyrostków stopowatych podocytów – dystroglikan. Białko to składa się z przezbłonowej podjednostki β o masie 43 kDa oraz pozakomórkowej podjednostki α o masie 156 kDa. Dystroglikan łączy się z lamininą i agryną w błonie podstawnej, a wewnątrz podocytów z aktyną poprzez utrofinę [59]. Kojima i wsp. wykazali, że połączenia α -dystroglikanu z lamininą i agryną w błonie podstawnej są bezpośrednio rozszczepiane przez polykation i wolne rodniki tlenowe, oraz że podocyty za pośrednictwem endocytozy usuwają niezwiązane białka adhezyjne błony komórkowej, co prowadzi do strukturalnej dezorganizacji blaszki jasnej zewnętrznej błony podstawnej. Powyższe wyniki potwierdzają hipotezę, że dystroglikan jest odpowiedzialny za utrzymywanie uporządkowanego układu białek błony podstawnej, co wpływa na jej przepuszczalność [34]. Regele i wsp. wysunęli przypuszczenie, że kontrolowane przez podocyty, pośredniczone przez aktynę usytuowanie dystroglikanu aktywnie modeluje organizację białek błony podstawnej, a co za tym idzie jej przepuszczalność [59]. Dodanie przeciwciał przeciw dystroglikanowi do medium w hodowli komórkowej hamuje formowanie kłębuszków w systemie organogenezy *in vitro* [59]. Mutacje podjednostki α lub β dystroglikanu są przeważnie letalne [59], podczas gdy defekty białek wiążących to białko powodują wystąpienie dystrofii mięśniowych. Obniżoną ekspresję dystroglikanu obserwowano w nefropatii wywołanej przez adriamycynę, podczas gdy nie zauważono zmian w ekspresji dystroglikanu w nefropatii wywołanej przez puromycynę oraz w nefropatii Heymanna [41]. Dystroglikan jest również obecny w błonie komórkowej miocytów, gdzie łączy się z cytoszkieletem poprzez dystrofinę, a jego ekspresja jest bardzo obniżona u chorych na dystrofię mięśniową [59].

Aparat kurczliwy jest związany z błoną podstawną kłębuszka przez kompleks $\alpha 3 \beta 1$ -integryny [56]. Integryny należą do białek adhezji i uczestniczą w oddziaływaniu między komórkami oraz między komórkami i macierzą pozakomórkową [6]. Białka te odgrywają ważną rolę w różnicowaniu i migracji komórek oraz przemianach macierzy pozakomórkowej. Integryny są białkami heterodimerycznymi i składają się z pojedynczego łańcucha α i β . Wyróżnia się 21 integryn różniących się umiejscowieniem w tkankach i powinowactwem do poszczególnych ligandów, do których zaliczamy m.in. fibronektynę, witronektynę i kolagen typu IV. Różne cytokiny w tym TGF- β , TNF- α oraz INF- γ regulują ekspresję integryn na różnych typach komórek [77]. W zdrowej nerce integryny są obecne w kłębuszku, w cewkach nerkowych, naczyniach i śródmiąższu [77]. Na podocytach wykazano dotychczas ekspresję jedynie integryn $\alpha V \beta 3$, $\alpha V \beta 5$ oraz $\alpha 3$. Integryna $\alpha 3 \beta 1$ występuje na podocytach, na wyrostkach stopowatych, a jej fragment pozakomórkowy uczestniczy w przyleganiu wyrostków stopowatych do białek macierzy pozakomórkowej błony podstawnej (laminina, kolagen IV, fibronektyna) [77]. Fragment cytoplazmatyczny natomiast oddziałuje z aktyną cytoszkieletu przez kompleks białek związanych z aktyną (talina, winkulina, α -aktynina 4, paksyliina) [70]. Powyższe interakcje między białkami odgrywają główną rolę w utrzymaniu struktury wyrostków stopowatych i ich przyleganiu do błony podstawnej. Podanie przeciwciał przeciw podjednostce $\beta 1$ integryny powoduje zmniejszone przyleganie wyrostków stopowatych do błony podstawnej [70]. U myszy z mutacją genu podjednostki $\alpha 3$ integryny zaobserwowano zanik wyrostków stopowatych podocytów i dezorganizację błony podstawnej [70]. W zespole nercycowym u szczurów wywołanym podaniem aminonukleozydu puromycyny zanotowano znaczący wzrost ekspresji domeny $\alpha 3$ -integryny, co mogło stanowić odpowiedź obronną podocyta zmierzającą do utrzymania kontaktu wyrostków stopowatych z błoną podstawną [70]. Jednocześnie nie zaobserwowano zmiany ekspresji podjednostki $\alpha 1$. Wydaje się jednak prawdopodobnym, że zasadnicze znaczenie dla procesu zaniku wyrostków stopowatych ma zaburzenie fizjologicznych interakcji między podjednostkami integryn a błoną podstawną i cytoszkieletem, a nie zmiana ekspresji podjednostek tych białek [70].

W odpowiedzi na wiele substancji wazoaktywnych podocyty reagują zmianami cytoszkieletu i są zdolne do wykonywania ruchów swoimi wypustkami stopowatymi przez co regulują współczynnik ultrafiltracji. Ruch wyrostków stopowatych jest regulowany dzięki obecności w cytoplazmie czterech fosfatów tyrozynowych oraz kinaz. Ciągła defosforylacja i fosforylacja białek podocytów, szczególnie paksyliiny, tensyny, p130CAS, oraz pp125FAK (focal adhesion kinase) przez te enzymy zapewnia utrzymanie prawidłowej struktury wyrostków stopowatych i ich przyleganie do błony podstawnej [5]. Zależne od integryn przyleganie komórkowe *in vitro* zachodzi w wyniku fosforylacji tyrozyny białka p130CAS, pp125FAK oraz innych białek adhezyjnych na błonie komórkowej [5]. Fosforylacja pp125FAK jest indukowana przez liczne bodźce, w tym czynniki wzrostowe, onkogeny [5] i wyzwala aktywację jej funkcji jako kinazy. Białko p130CAS wiąże się z pp125FAK i powoduje łączenie innych białek w kompleksy, przyczyniając się w ten sposób do powstawania ogniskowych zrostów (adhesions) [5]. U myszy z brakiem

białka pp125FAK zaobserwowano raczej niezdolność do przebudowy zrостów niż niezdolność do ich wytwarzania. Towarzyszyła temu zmniejszona ruchliwość komórkowa [5]. Odwrotnie, zwiększona ekspresja pp125FAK w hodowli prowadzi do zwiększonej ruchliwości komórkowej [5]. Fosforylacja tyrozyny odzwierciedla zwiększoną ruchliwość podocytów na skutek remodelowania (remodel) ich wyrostków stopowatych [4]. P130CAS odgrywa ważną rolę w przekazywaniu sygnałów z miejsc przylegania komórkowego do cytoszkieletu [78].

Podocyty stabilizują także strukturę kłębuszka przeciwstawiając się siłom sprężystości błony podstawnej [37]. Z badań Kriza i wsp. wynika, że komórki mezangialne i podocyty współdziałają w utrzymywaniu prawidłowej struktury kłębuszka, kompensując ubytek funkcji wywołany uszkodzeniem jednego z tych elementów. Uszkodzenie obwodowego odcinka włóscniczki prowadzi do kompensacyjnego przyrostu liczby komórek mezangialnych, celem utrzymania kontaktu z błoną podstawną. Obserwuje się jednak wzrost napięcia elementów kurczliwych podocytów w celu utrzymania fizjologicznego układu ciśnień wewnątrz-kłębuszkowych zapewniających prawidłową funkcję filtra kłębuszkowego [37].

Według Kriza i wsp., jedną z istotnych przyczyn uszkodzenia podocytów może być zwiększone ciśnienie wewnątrz-włósczki i mechaniczne przeciążenie tych komórek. Odczepienie wypustek stopowatych podocytów od błony podstawnej i jej odsłonięcie prowadzi do powstania zlepek pętli włósczkowych z torebką Bowmana prowadząc w ten sposób do powstania zmian sklerotycznych w kłębuszku [36]. Odczepienie podocytów od błony podstawnej włósczki powoduje obnażenie ściany włósczki. Jeżeli proces ten odbywa się w peryferyjnych częściach kłębuszka ściana włósczki zostaje pokryta przez nową błonę podstawną i inne komórki epitelialne, reakcja ta nie zachodzi w centralnych częściach kłębuszka. Te nowe komórki epitelialne charakteryzują się formowaniem kompleksów połączeń międzykomórkowych o typie przylegania i desmosomów między sobą i z komórkami torebki Bowmana, a także wykazują obecność rzęsek, apoptotycznych jąder i mitozy. W ten sposób reakcja komórkowa na odczepienie wyrostków stopowatych podocytów od błony podstawnej stanowi wstęp do wytworzenia zmian sklerotycznych w kłębuszku [31].

B7-1 (CD80) jest białkiem przezbłonowym obecnym na powierzchni limfocytów B oraz innych komórek prezentujących antygen, które działa – podobnie jak białko B7-2 (CD86) – jako kostymulator limfocytów T przez wiązanie się do jego receptora CD28 i CTLA-4 na limfocytach T [52]. Białko to odgrywa główną rolę w odpowiedzi immunologicznej zależnej od limfocytów T. Przyłączenie się B7-1 do receptora na powierzchni limfocytów T wywołuje przemieszczenie się kinaz białkowych i białek wiążących aktywnie do obszaru oddziaływania z komórkami APC. Wytworzenie takich immunologicznych synaps powoduje reorganizację aktywności cytoszkieletu limfocytów T, aktywuje białkową kinazę tyrozynową i kontroluje aktywność

Ras- i Rho-family GTPases. Białka CD80 i CD86 odgrywają ważną rolę w patogenezie wielu chorób zależnych od limfocytów T, takich jak eksperymentalne autoimmunologiczne zapalenie rdzenia kręgowego, zapalenie stawów indukowane kolagenem, czy eksperymentalne autoimmunologiczne zapalenie tarczycy [52]. Białka te są również niezwykle ważne w indukowaniu licznych modeli eksperymentalnych KZN, włączając autoimmunologiczne KZN, nefropatię toczniową, odrzucenie przeszczepu nerki, czy anti-GBM KZN [52].

B7-1 wykazuje ekspresję również w podocytach w chwili zadziałania różnych patogennych czynników, do których można zaliczyć bodźce genetyczne (delecja nefryny lub $\alpha 3$ integryny), toksyczne (puromycyna i wolne rodniki tlenowe) oraz immunologiczne (lipopolisacharyd) [62]. Lipopolisacharyd jest najsilniejszym endogennym induktorem ekspresji B7-1 działającym przez TLR-4 receptor. Reiser i wsp. opisali, że podocyty wykazują konstytutywną ekspresję receptora lipopolisacharydu TLR-4 oraz jego koreceptora CD14 i odpowiadają na ekspozycję na lipopolisacharyd przez zwiększenie ekspresji B7-1. Oddziaływanie lipopolisacharydu na TLR-4 w podocytach wywołuje reorganizację aktywności cytoszkieletu i wpływa na organizację błon szczelinowych, co prowadzi do zlewania się wyrostków stopowatych podocytów i białkomoczu. Powyższe procesy są niezależne od limfocytów T i B i stanowią nową unikatową funkcję B7-1. Reiser i wsp. zaobserwowali zlewanie się wyrostków stopowatych podocytów i wystąpienie znacznego białkomoczu po wstrzyknięciu myszom lipopolisacharydu [62].

Indukcja B7-1 w podocytach przez LPS na skutek pobudzenia receptora TLR sugeruje, że podocyty są nowym elementem wrodzonego systemu immunologicznego, który jest wyposażony w mechanizmy sygnalizujące uszkodzenie (danger signaling machinery) [62].

Odobasic i wsp. wykazali znaczny wzrost ekspresji CD80 i CD86 w kłębuszkach nerkowych w modelu eksperymentalnym anti-GBM KZN u myszy, co świadczy o ważnej roli tych białek w procesie gromadzenia się komórek Th1 i makrofagów w kłębuszku powodując zaostrzenie uszkodzenia nerek [52].

PODSUMOWANIE

Powyższe dane wskazują na niezwykle złożoną strukturę podocytów przystosowującą je do pełnienia skomplikowanych funkcji w kłębuszku nerkowym. Jednak przystosowanie to odbywa się kosztem utraty, jakże istotnych dla zachowania integralności kłębuszka, zdolności proliferacyjnych. Wiele białek charakterystycznych dla podocytów zostało wykorzystanych do oceny zmian zachodzących w kłębuszku nerkowym w przebiegu różnych glomerulopatii i do określenia udziału podocytów w patogenezie tych chorób. Jak dotąd wiele badań wskazuje na ważną rolę uszkodzenia podocytów w zapoczątkowaniu i postępie kłębuszkowych chorób nerek.

PIŚMIENICTWO

- [1] Abrahamson D.R.: Glomerulogenesis in the developing kidney. *Semin. Nephrol.*, 1991; 11: 375–389
- [2] Ahola H., Heikkilä E., Astrom E., Inagaki M., Izawa I., Pavenstadt H., Kerjaschki D., Holyhofer H.: A novel protein, densin, expressed by glomerular podocytes. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2003; 14: 1731–1737
- [3] Andrews P.M.: Glomerular epithelial alterations resulting from sialic acid surface coat removal. *Kidney Int.*, 1979; 15: 376–385
- [4] Asanuma K., Kim K., Oh J., Giardino L., Chabanis S., Faul C., Reiser J., Mundel P.: Synaptopodin regulates the actin-bundling activity of α -actinin in an isoform-specific manner. *J. Clin. Invest.*, 2005; 115: 1188–1198
- [5] Bains R., Furness P.N., Critchley D.R.: A quantitative immunofluorescence study of glomerular cell adhesion proteins in proteinuric states. *J. Pathol.*, 1997; 183: 272–280
- [6] Baraldi A., Zambruno G., Furci L., Ballestri M., Tombesi A., Ottani D., Lucchi L., Lusvardi E.: $\alpha 1$ and $\alpha 3$ integrin upregulation in rapidly progressive glomerulonephritis. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 1995; 10: 1155–1161
- [7] Barbaux S., Naudet P., Gubler M.C., Grunfeld J.P., Jaubert F., Kuttenn F., Fekete C.N., Souleyreau-Therville N., Thibaud E., Fellous M., McElreavey K.: Donor splice-site mutations in WT1 are responsible for Frasier syndrome. *Nat. Genet.*, 1997; 17: 467–470
- [8] Bariety J., Nochy D., Mandet C., Jacquot C., Glotz D., Meyrier A.: Podocytes undergo phenotypic changes and express macrophagic-associated markers in idiopathic collapsing glomerulopathy. *Kidney Int.*, 1998; 53: 918–925
- [9] Barisoni L., Kriz W., Mundel P., D'Agati V.: The dysregulated podocyte phenotype: a novel concept in the pathogenesis of collapsing idiopathic focal segmental glomerulosclerosis and HIV-associated nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 1999; 10: 51–61
- [10] Bertelli R., Ginevri F., Caridi G., Dagnino M., Sandrini S., Di Duca M., Emma F., Sanna-Cherchi S., Scolari S., Neri T.M., Murer L., Massella L., Basile G., Rizzoni G., Perfumo F., Ghiggeri G.M.: Recurrence of focal segmental glomerulosclerosis after renal transplantation in patients with mutations of podocin. *Am. J. Kidney Dis.*, 2003; 54: 1314–1321
- [11] Boute N., Gribouval O., Roselli S., Benessy F., Lee H., Fuchshuber A., Dahan K., Gubler M.C., Naudet P., Antignac C.: NPHS2 encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat. Genet.*, 2000; 24: 349–354
- [12] Breiteneder-Geleff S., Matsui K., Soleiman A., Meraner P., Poczewski H., Kalt R., Schaffner G., Kerjaschki D.: Podoplanin, novel 43-kd membrane protein of glomerular epithelial cells, is down-regulated in puromycin nephrosis. *Am. J. Pathol.*, 1997; 151: 1141–1152
- [13] Breiteneder-Geleff S., Soleiman A., Kowalski H., Horvat R., Amann G., Kriehuber G., Diem K., Weninger W., Tschachler E., Alitalo K., Kerjaschki D.: Angiosarcomas express mixed endothelial phenotypes of blood and lymphatic capillaries: podoplanin as a specific marker for lymphatic endothelium. *Am. J. Pathol.*, 1999; 154: 385–394
- [14] Caridi G., Bertelli R., Di Duca M., Dagnino M., Emma F., Onetti Muda A., Scolari F., Miglietti N., Mazzucco G., Murer L., Carrea A., Massella L., Rizzoni G., Perfumo F., Ghiggeri G.M.: Broadening the spectrum of diseases related to podocin mutations. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2003; 14: 1278–1286
- [15] Debiec H., Guigonis V., Mougnot B., Decobert F., Haymann J.P., Bensman A., Deschenes G., Ronco P.M.: Antenatal membranous glomerulonephritis due to anti-neutral endopeptidase antibodies. *N. Engl. J. Med.*, 2002; 346: 2053–2060
- [16] Deschodt-Lanckman M., Michaux F., De Prez E., Abramowicz B., Vanherweghem J.L., Goldman M.: Increased serum level of endopeptidase 24.11 (enkephalinase) in patients with end-stage renal failure. *Life Sci.*, 1989; 45: 133–141
- [17] Doyonnas R., Kershaw D.B., Duhme C., Markens H., Chelliah S., Graf T., McNagny K.M.: Anuria, omphalocele, and perinatal lethality in mice lacking the CD34-related protein podocalyxin. *J. Exp. Med.*, 2001; 194: 13–27
- [18] Echigoya M.H., Obikane K., Nakashima T., Sasaki S.: Glomerular localization of erythropoietin receptor mRNA and protein in neonatal and mature mouse kidney. *Nephron Exp. Nephrol.*, 2005; 100: e21–e29
- [19] Englert C., Maheswaran S., Garvin A.J., Kreidberg J., Haber D.A.: Induction of p27 by the Wilms' tumor suppressor gene WT1. *Cancer Res.*, 1997; 57: 1429–1434
- [20] Gerke P., Sellin L., Kretz O., Petraschka D., Zentgraf H., Benzing T., Walz G.: NEPH2 is located at the glomerular slit diaphragm, interacts with nephrin and is cleaved from podocytes by metalloproteinases. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2005; 16: 1693–1702
- [21] Grunkemeyer J.A., Kwok C., Huber T.B., Shaw A.S.: CD2-associated protein (CD2AP) expression in podocytes rescues lethality of CD2AP deficiency. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 29677–29681
- [22] Guo J.K., Menke A.L., Gubler M.C., Clarke A.R., Harrison D., Hammes A., Hastie N.D., Schedl A.: WT1 is a key regulator of podocyte function: reduced expression levels cause crescentic glomerulonephritis and mesangial sclerosis. *Hum. Mol. Genet.*, 2002; 11: 651–659
- [23] Hiromura K., Haseley L.A., Zhang P., Monkawa T., Durvasula R., Petermann A.T., Alpers C.E., Mundel P., Shankland S.J.: Podocyte expression of the CDK-inhibitor p57 during development and disease. *Kidney Int.*, 2001; 60: 2235–2246
- [24] Honda K., Yamada T., Endo R., Ino Y., Gotoh M., Tsuda H., Yamada Y., Chiba H., Hirohashi S.: Actinin-4, a novel actin-bundling protein associated with cell motility and cancer invasion. *J. Cell Biol.*, 1998; 140: 1383–1393
- [25] Horvat R., Hovorka A., Dekan G., Poczewski H., Kerjaschki D.: Endothelial cells membranes contain podocalyxin: the major sialoprotein of visceral glomerular epithelial cell. *J. Cell. Biol.*, 1986; 102: 484–491
- [26] Ito S., Ikeda M., Takata A., Kikuchi H., Hata J., Honda M.: Nephrotic syndrome and end-stage renal disease with WT1 mutation detected at 3 years. *Pediatr. Nephrol.*, 1999; 13: 790–791
- [27] Jalanko H.: Pathogenesis of proteinuria: lessons learned from nephrin and podocin. *Pediatr. Nephrol.*, 2003; 18: 487–491
- [28] Kaplan J.M., Kim S.H., North K.M., Rennek H., Correia L.A., Tong H.Q., Mathis B.J., Rodriguez-Perez J.C., Allen P.G., Beggs A.H., Pollak M.R.: Mutations in ACTN4, encoding alpha-actin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nat. Genet.*, 2000; 24: 251–256
- [29] Kerjaschki D.: Caught flat-footed: podocyte damage and the molecular bases of focal glomerulosclerosis. *J. Clin. Invest.*, 2001; 108: 1583–1587
- [30] Kerjaschki D., Sharkey D.J., Farquhar M.G.: Identification and characterization of podocalyxin – the major sialoprotein of the renal glomerular epithelial cell. *J. Cell Biol.*, 1984; 98: 1591–1596
- [31] Kihara I., Tsuchida S., Yaoita E., Yamamoto T., Hara M., Yanagihara T., Takada T.: Podocyte detachment and epithelial cell reaction in focal segmental glomerulosclerosis with cellular variants. *Kidney Int. Suppl.*, 1997; 63: S171–S176
- [32] Kobayashi N., Mominoki K., Wakisaka H., Shimazaki Y., Matsuda S.: Morphogenetic activity of extracellular matrices on cultured podocytes. Laminin accelerates podocyte process formation *in vitro*. *Ital. J. Anat. Embryol.*, 2001; 106: 423–430
- [33] Kobayashi N., Reiser J., Kriz W., Kuriyama R., Mundel P.: Nonuniform microtubular polarity established by CHO1/MKLP1 motor protein is necessary for process formation of podocytes. *J. Cell Biol.*, 1998; 143: 1961–1971
- [34] Kojima K., Davidovits., Poczewski H., Langer B., Uchida S., Nagy-Bojarski K., Hovorka A., Sedivy R., Kerjaschki D.: Podocyte flattening and disorder of glomerular basement membrane are associated with splitting of dystroglycan-matrix interaction. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2004; 15: 2079–2089
- [35] Kos C.H., Le T.C., Sinha S., Henderson J.M., Kim S.H., Sugimoto H., Kalluri R., Gerszten R.E., Pollak M.R.: Mice deficient in α -actinin-4 have severe glomerular disease. *J. Clin. Invest.*, 2003; 111: 1683–1690
- [36] Kriz W., Gretz N., Lemley K.: Progression of glomerular diseases: Is the podocyte the culprit? *Kidney Int.*, 1998; 54: 687–697
- [37] Kriz W., Hackenthal E., Nobiling R.: A role for podocytes to counteract capillary wall distension. *Kidney Int.*, 1994; 45: 369–376
- [38] Kurihara H., Anderson J.M., Farquhar M.G.: Increased Tyr phosphorylation of ZO-1 during modification of tight junctions between glomerular foot processes. *Am. J. Physiol.*, 1995; 268: F514–F524
- [39] Lehtonen S., Ryan J.J., Kudlicka K., Iino N., Zhou H., Farquhar M.G.: Cell junction-associated proteins IQGAP1, MAGI-2, CASK, spectrins, and α -actinin are components of the nephrin multiprotein complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 9814–9819
- [40] Liu X.L., Kilpelainen P., Hellman U., Sun Y., Wartiovaara J., Morgunova E., Pikkarainen T., Yan K., Jonsson A.P., Tryggvason K.: Characterization of the intractions of the nephrin intracellular domain. Evidence that the scaffolding protein IQGAP1 associates with nephrin. *FEBS J.*, 2005; 272: 228–243

- [41] Luimula P., Sandstrom N., Novikov D., Holthofer H.: Podocyte-associated molecules in puromycin aminonucleoside nephrosis of the rat. *Lab. Invest.*, 2002; 82: 713–718
- [42] Malfroy B., Kuang W.J., Seeburg P.H., Mason A.J., Schofield P.R.: Molecular cloning and amino acid sequence of human enkephalinase (neutral endopeptidase). *FEBS Lett.*, 1988; 229: 206–210
- [43] Matsui K., Breitender-Geleff S., Soleiman A., Kowalski H., Kerjaszki D.: Podoplanin, a novel 43-kDa membrane protein, controls the shape of podocytes. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 1999; 14(Suppl.1): 9–11
- [44] Metzgar R.S., Borowitz M.J., Jones N.H., Dowell B.L.: Distribution of common acute lymphoblastic leukemia antigen in nonhematopoietic tissues. *J. Exp. Med.*, 1981; 154: 1249–1254
- [45] Moll R., Hage C., Thoenes W.: Expression of intermediate filament proteins in fetal and adult human kidney: modulations of intermediate filament patterns during development and in damaged tissue. *Lab. Invest.*, 1991; 65: 74–86
- [46] Mundel P., Heid H.W., Mundel T.M., Kruger M., Reiser J., Kriz W.: Synaptopodin: an actin associated protein in telencephalic dendrites and renal podocytes. *J. Cell Biol.*, 1997; 139: 193–204
- [47] Mundel P., Kriz W.: Structure and function of podocytes: an update. *Anat. Embryol.*, 1995; 192: 385–397
- [48] Nagata M., Nakayama K., Terada Y., Hoshi S., Watanabe T.: Cell cycle regulation and differentiation in the human podocyte lineage. *Am. J. Pathol.*, 1998; 153: 1511–1520
- [49] Nagata M., Yamaguchi Y., Ito K.: Loss of mitotic activity and the expression of vimentin in glomerular epithelial cells of developing human kidneys. *Anat. Embryol.*, 1993; 187: 275–279
- [50] Nangaku M., Johnson R.J., Couser W.G.: Glomerulonephritis and complement regulatory proteins. *Exp. Nephrol.*, 1997; 5: 345–354
- [51] Nolasco F.E., Cameron J.S., Hartley B., Coelho R.A., Hildreth G., Reuben R.: Abnormal podocyte CR-1 expression in glomerular diseases: association with glomerular cell proliferation and monocyte infiltration. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 1987; 2: 304–312
- [52] Odobasic D., Kitching A.R., Semple T.J., Timoshanko J.R., Tipping P.G., Holdsworth S.R.: Glomerular expression of CD80 and CD86 is required for leukocyte accumulation and injury in crescentic glomerulonephritis. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2005; 16: 2012–2022
- [53] Palmer R.E., Kotsianti A., Cadman B., Boyd T., Gerald W., Haber D.A.: WT1 regulates the expression of the major glomerular podocyte membrane protein podocalyxin. *Curr. Biol.*, 2001; 11: 1805–1809
- [54] Patek C.E., Little M.H., Fleming S., Miles C., Charlieu J.P., Clarke A.R., Miyagawa K., Christie S., Doig J., Harrison D.J., Porteous D.J., Brookes A.J., Hooper M.L., Hastie N.D.: A zinc finger truncation of murine WT1 results in the characteristic urogenital abnormalities of Denys-Drash syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999; 96: 2931–2936
- [55] Patrakka J., Martin P., Salonen R., Kestila M., Ruotsalainen V., Mannikko M., Ryyanen M., Rapola J., Holmberg C., Tryggvason K., Jalanko H.: Proteinuria and prenatal diagnosis of congenital nephrosis in fetal carriers of nephrin gene mutations. *Lancet*, 2002; 359: 1575–1577
- [56] Pavenstadt H.: Roles of the podocyte in glomerular function. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2000; 278: F173–F179
- [57] Platt J.L., LeBien T.W., Michael A.F.: Stages of renal ontogenesis identified by monoclonal antibodies reactive with lymphohematopoietic differentiation antigens. *J. Exp. Med.*, 1983; 157: 155–172
- [58] Rastaldi M.P., Armelloni S., Berra S., Li M., Pesaresi M., Poczewski H., Langer B., Kerjaszki D., Henger A., Blattner S.M., Kretzler M., Wanke R., D'Amico G.: Glomerular podocytes possess the synaptic vesicle molecule Rab3A and its specific effector rabphilin-3a. *Am. J. Pathol.*, 2003; 163: 889–899
- [59] Regele H.M., Filipovic E., Langer B., Poczewski H., Kraxberger I., Bittner R.E., Kerjaszki D.: Glomerular expression of dystroglycans is reduced in minimal change nephrosis but not in focal segmental glomerulosclerosis. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2000; 11: 403–412
- [60] Reiser J., Kriz W., Kretzler M., Mundel P.: The glomerular slit diaphragm is modified adherens junction. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2000; 11: 1–8
- [61] Reiser J., Polu K.R., Moller C.C., Kenlan P., Altintas M.M., Wei C., Faul C., Herbert S., Villegas I., Avila-Casado C., McGee M., Sugimoto H., Brown D., Kalluri R., Mundel P., Smith P.L., Clapham D.E., Pollak M.R.: TRPC6 is a glomerular slit diaphragm-associated channel required for normal renal function. *Nature Genetics*, 2005; 37: 739–744
- [62] Reiser J., von Gersdorff G., Loos M., Oh J., Asanuma K., Giardino L., Rastaldi M., Calvaresi N., Watanabe H., Schwarz K., Faul C., Kretzler M., Davidson A., Sugimoto H., Kalluri R., Sharpe A.H., Kreidberg J.A., Mundel P.: Induction of B7-1 in podocytes is associated with nephrotic syndrome. *J. Clin. Invest.*, 2004; 113: 1390–1397
- [63] Ronco P.M., Ardaillou N., Verroust P., Lelongt B.: Pathophysiology of the podocyte: a target and a major player in glomerulonephritis. *Adv. Nephrol. Necker Hosp.*, 1994; 23: 91–131
- [64] Schnabel E., Anderson J.M., Farquhar M.G.: The tight junction protein ZO-1 is concentrated along slit diaphragms of the glomerular epithelium. *J. Cell Biol.*, 1990; 111: 1255–1263
- [65] Schopperle W.M., Kershaw D.B., DeWolf W.C.: Human embryonal carcinoma tumor antigen, Gp200/GCTM-2, is podocalyxin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003; 300: 285–290
- [66] Schwarz K., Simons M., Reiser J., Saleem M.A., Faul C., Kriz W., Shaw A.S., Holzman L.B., Mundel P.: Podocin, a raft associated component of the glomerular slit diaphragm, interacts with CD2AP and nephrin. *J. Clin. Invest.*, 2001; 108: 1621–1629
- [67] Shankland S.J., Eitner F., Hudkins K.L., Goodpaster P., D'Agati W., Alpers C.E.: Differential expression of cyclin-dependent kinase inhibitors in human glomerular disease: role in podocyte proliferation and maturation. *Kidney Int.*, 2000; 58: 674–683
- [68] Shankland S.J., Wolf G.: Cell cycle regulatory proteins in renal disease: role in the hypertrophy, proliferation, and apoptosis. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2000; 278: F515–F529
- [69] Shih N.Y., Li J., Karpitskii V., Nguyen A., Dustin M.L., Kanagawa O., Miner J.H., Shaw A.S.: Congenital nephrotic syndrome in mice lacking CD2-associated protein. *Science*, 1999; 286: 312–315
- [70] Smoyer W.E., Mundel P.: Regulation of podocyte structure during the development of nephrotic syndrome. *J. Mol. Med.*, 1998; 76: 172–183
- [71] Smoyer W.E., Ransom R.F.: Hsp27 regulates podocyte cytoskeletal changes in an *in vitro* model of podocyte process retraction. *FASEB J.*, 2002; 16: 315–326
- [72] Takeda T., McQuistan T., Orlando R.A., Farquhar M.G.: Loss of glomerular foot processes is associated with uncoupling of podocalyxin from the actin cytoskeleton. *J. Clin. Invest.*, 2001; 108: 289–301
- [73] Tassin M., Beziau A., Gubler M., Boyer B.: Spatiotemporal expression of molecules associated with junctional complexes during *in vivo* maturation of renal podocytes. *Int. J. Dev. Biol.*, 1994; 38: 45–54
- [74] Thomas P., Wharram B.L., Goyal M., Wiggins J.E., Holzman L.B., Wiggins R.C.: GLEPP1, a membrane protein tyrosine phosphatase. Identification, molecular cloning, and characterization in rabbit. *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 19953–19962
- [75] Tomari S., Nagahama H., Shu Y., Hoshi S., Nakayama K., Nakayama K.I., Nagata M.: Glomerular differentiation in p27 and p57 double-mutant metanephroi. *Anat. Embryol.*, 2002; 206: 31–36
- [76] Wagner K.D., Wagner N., Schedl A.: The complex life of WT1. *J. Cell Sci.*, 2003; 16: 1653–1658
- [77] Weinacker A., Chen A., Agrez M.: Role of the integrin α V β 6 in cell attachment to fibronectin. *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 6940–6948
- [78] Welsch T., Endlich N., Kriz W., Endlich K.: CD2AP and p130Cas localize to different F-actin structures in podocytes. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2001; 281: F769–F777
- [79] Wolf G., Stahl R.: CD2-associated protein and glomerular disease. *The Lancet*, 2003; 362: 1746–1748
- [80] Yang Y., Gubler M.C., Beauflis H.: Dysregulation of podocyte phenotype in idiopathic collapsing glomerulopathy and HIV-associated nephropathy. *Nephron*, 2002; 91: 416–423
- [81] Yaoita E., Kurihara H., Yoshida Y., Inoue T., Matsuki A., Sakai T., Yamamoto T.: Role of Fat1 in cell-cell contact formation of podocytes in puromycin aminonucleoside nephrosis and neonatal kidney. *Kidney Int.*, 2005; 68: 542–551